UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

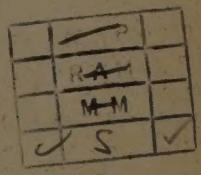
431

O VERONA - A. RAMBELLI

Intorno ad un ceppo di *Candida Reukaufii* (Grüss) Diddens et Lodder isolato da fiori di Eucalitto

(CON DUE TAVOLE FUORI TESTO E DUE FIGURE NEL TESTO)

Estratto da « Atti Istituto Botanico Lab. Critt. Università Pavia »
Serie 5, Vol. XIX, pag. 77-84 (1961)



ISTITUTO DI MICROBIOLOGIA AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ DI PISA

O. VERONA e A. RAMBELLI (1)

Intorno ad un ceppo di *Candida Reukaufii* (Grüss) Diddens et Lodder isolato da fiori di Eucalitto

(CON DUE TAVOLE FUORI TESTO E DUE FIGURE NEL TESTO)

(1) Del Centro di Sperimentazione Agricola e Forestale dell'E.N.C.C. in Roma Diretto dal Prof. A. De Philippis.

Nel corso di alcune ricerche sui lieviti presenti in fiori di Eucalitto uno di noi (Rambelli) ha isolato durante il corrente anno da *Eucaliptus globulus* un lievito che i caratteri convenzionali di seguito riportati consentono di riferire a *Candida Reukaufii* (Grüss) Diddens et Lodder (2).

Occorre precisare che, al momento dell'isolamento, esso presentava su agar-malto strie dense e pastose, ma a superficie completamente liscia. Tale aspetto si venne però modificando, in alcuni tubi, per il comparire nella parte più bassa dello striscio di piccole rare protuberanze originanti in seguito piccole strutture crateriformi.

Tanto osservato si procedette allora al separato isolamento di cellule provenienti sia dalle zone lisce che dalle zone di aspetto crateriforme. Ottenemmo così, dal ceppo di origine, cinque distinte colture contraddistinte con le lettere A - B - C - D - E.

Gli strisci su malto di A - C - D - E presentavano patine lisce; lo striscio della coltura B si presentava invece liscio alla periferia, ma completamente rugoso al centro.

C. Reukaufii è stato un lievito variamente interpretato dal punto di vista sistematico e la sua posizione, nonostante l'ultimo riferimento al gen. *Candida*, è forse ancora discutibile.

Per questo motivo una qualche nuova descrizione che magari evidenzi particolari aspetti non ci è sembrata fuori luogo.

---

(2) Tale riferimento, che ci aveva da prima lasciati un poco perplessi, è stato poi confortato anche dall'opinione della Dr. Kreger-van Rij che qui vivamente ringraziamo per la sua cortesia.

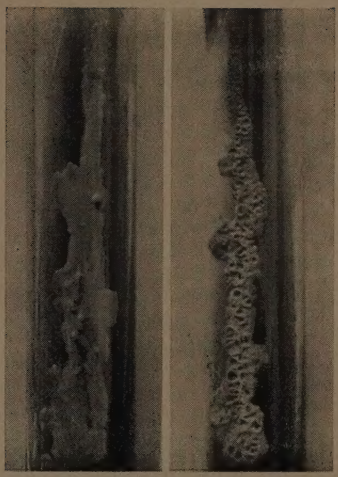


Fig. 1 - Aspetto liscio e rugoso di *Candida Reukaufii*

DESCRIZIONE TECNICA [3]

— *Sviluppo su estratto di malto:* dopo 3 giorni a 26°C. cellule solitamente cilindriche od ellittico-allungate, di μ 2.4 (2.8) 3.2 x 7.8-12. Queste sono accompagnate, ma non frequentemente, da più grosse cellule provviste di una grande massa di grasso.

Liquido limpido con sedimento; formazione di anello possibile, dopo un mese di coltura.

— *Strisci su agar-malto.* Dopo un mese a 15-17°C. vegetazioni abbondanti, opache, di colore prima biancastro, quindi di un bianco-grigio-crema. Consistenza poltacea. Superficie completamente liscia oppure con piccole aree circolari leggermente rilevate, o infine più o meno rugosa e strutturata.

Cellule ellittico-allungate o cilindriche di μ (2.6-3.2) x (7.8-10.4) gemmanti apicalmente od anche obliquamente.

---

[3] Dati tratti seguendo le metodologie di LODDER e KREGER VAN RIJ e di WICKERHAM. Mezzi nutritizi della Casa DIFCO.

Miste a queste cellule si rinvengono grosse cellule di forma ovoide od ellittica e di dimensioni varie ma in media di μ 7.8 x 15.6 circa. Talvolta esse sono in numero fortemente prevalente sulle altre.

Queste cellule (normalmente interpretate come clamidospore) si presentano quasi completamente o anche completamente piene di grasso. Peraltro, in determinati momenti, per *rottura* della parete cellulare, tale massa di grasso fuoriesce all'esterno. Tanto si verifica verso la parte apicale della cellula o anche lateralmente (4).

Qualche volta, queste grosse cellule, invece di presentare un'unica massa di grasso presentano due o più grosse gocce oleose; talvolta ancora si presentano grossolanamente granulose.

Nella coltura B, interpretata come la variante rugosa della specie, sono presenti i due descritti tipi di cellule; ma inoltre sono abbondantemente presenti segmenti cellulari allungati provenienti dalla germinazione sia delle uno come delle altre cellule.

— *Sviluppo su patata.* Patina abbondante, un po' rilevata, pastosa, opaca, di colore bianco-grigiastro. Cellule cilindriche di μ 2.6-3.2 x 7.8-8.2 gemmanti di lato in prossimità di una delle parti distali. Nella coltura B sono presenti filamenti pseudomiceliari.

— *Sviluppo su carota.* Patina abbondante, ma meno che in patata, mucoso-poltacea, lucente, di colore biancastro. L'aspetto morfologico è uguale a quello segnato per l'agar-malto.

— *Colture su vetro porta-oggetti.* La coltura B da origine su agar-patata, ma anche sugli altri agar, a formazione di pseudomicelio costituito ora di più o meno lunghe catene (talvolta ramificate) di cellule cilindriche, ora da cellule ifoidi di aspetto sinuoso.

— *Sviluppo in sol. 25% di miele.* E' in tale mezzo, come noto, che compaiono quegli aspetti morfologici a croce o ad « aeroplano » ritenuti caratteristici della specie. Anche nel nostro isolato formazioni di questo tipo, peraltro non frequenti, sono state osservate. Del resto, parimenti osservata, è stata la presenza di cellule a forma di ifa come già osservarono Nadson e Krassilnikov.

---

(4) E' interessante notare come, questo processo, sia proprio anche di *Taphrina*. MARTIN (*Phytopatology*, *15*, 67-79, 1925) studiando alcune *Taphrina* nel notare la presenza di cellule uguali a quelle descritte da MIX « for *Exoascus deformans* and designed by him a resting cell », osserva che la loro germinazione « consisted of the rupturing of the think wall of the spore, either at one end or one side, and the outward projection of the contents ». Vero è che le varie specie di *Taphrina* danno in coltura vegetazioni lievitiformi.

— *Sviluppo in mezzi ad elevata concentrazione osmotica.* In acqua di lievito addizionata di glucosio fino a raggiungere pressioni osmotiche di atm. 30, 50, 70, 80 (5) si è avuto sempre buono sviluppo sotto forma di denso sedimento. Questo comportamento osmo-tollerante forse non era stato ancora ben evidenziato in coltura. Morfologicamente sono state osservate lunghe cellule cilindriche disposte in corte catene ed anche forme ad aeroplano.

— *Sporulazione.* Nessuna formazione di spore è stata osservata. Peraltro dobbiamo notare come, in agar-Gorodkowa, molte clamidospore si siano presentate morfologicamente diverse da quelle osservate in agar-malto apparendo più allungate, un po' diverse nella forma e a contenuto protoplasmatico granuloso.

— *Fermentazioni:*

glucosio	+	maltosio	—
galattosio	—	lattosio	—
saccarosio	—	raffinosio	—

— *Assimilazione dei composti di carbonio:*

glucosio	+	maltosio	+
galattosio (debole)	+	lattosio	—
saccarosio	+		

negativa l'assimilazione dell'arabinosio, xilosio, ramnosio ed α-m'-glucoside.

— *Assimilazione dei composti azotati:*

peptone	+	solfato ammonico	+
asparagina	+	nitrato di potassio	—
urea	+		

— *Utilizzazione dell'etanolo:* discreto sviluppo nei mezzi contenenti solo etanolo come sorgente di carbonio.

— *Scissione dell'arbutina:* positiva.

— *Sviluppo in assenza di vitamine:* positivo.

— *Sviluppo a 37°C.:* negativo (positivo a 32°C.).

Considerazioni sistematiche

Sono ben note le vicende sistematiche di questa interessante specie e i fondamentali studi che su di essa sono stati condotti — dopo l'isola-

(5) Glucosio presente, rispettivamente, gr. %: 24; 40.2; 56.2; 64.3.

mento da parte di REUKAUF (1911-12) — da GRÜSS, HAUTMANN, NADSON e KRASSILNIKOV (6).

Di tali studi gioverà richiamare i punti più importanti e questo non tanto per i rilievi di carattere fisiologico, sopra i quali tutti concordano, quanto per i caratteri morfologici.

Per GRÜSS l'aspetto morfologico che caratterizza questa specie (carattere preso in considerazione anche da altri Aa.) è la frequente disposizione delle cellule a tetrade, a croce o, meglio ancora, ad « aeroplano ». Tali figure sono dipendenti il particolare modo di gemmazione delle cellule che, in presenza di nettare od in mezzo N-carente, si allungano dando origine ad una estremità a due cellule laterali e opposte.

GRÜSS osservò altresì rimarchevoli modificazioni morfologiche in rapporto soprattutto alle sorgenti alimentari e quindi anche il formarsi di più grandi cellule contenenti una o più gocce di grasso (« Dauerzellen »).

HAUTMANN ricorda che la caratteristica disposizione delle cellule appare soprattutto nei mezzi a bassa concentrazione in azoto e alta concentrazione zuccherina e ben areati; è soprattutto la concentrazione osmotica del mezzo, tuttavia, che condiziona la formazione delle tipiche figure a croce. HAUTMANN osservò altresì i due diversi aspetti colturali, liscio e rugoso.

NADSON e KRASSILNIKOV tornano a descrivere i vari aspetti morfologici che questo strano lievito assume in dipendenza delle condizioni alimentari ed evidenziano, come nuovo reperto ,la formazione di lunghe cellule di aspetto miceliare. Tali cellule darebbero addirittura origine a vero e proprio micelio producente a sua volta rotondi o leggermente ovali conidi.

Finalmente MARTIN (7), nella ridescrizione della specie, distingue, studiando diversi isolati, due tipi dei quali uno produce caratteristicamente pseudomicelio, dà patine mucose e brunastre e fermenta attivamente il glucosio, mentre un altro non produce o produce scarso pseudomicelio, dà patine non mucose e color crema e fermenta poco il glucosio.

La posizione sistematica di questa specie, primamente denominata da GRÜSS *Anthomyces Reukauffi* e quindi dai SYDOW *Nectaromyces Reukaufii* (Grüss) H. et P. Sydow, è rimasta per un certo tempo incerta.

---

(6) J. LODDER e N. W. KREGER-VAN RIJ: *The Yeasts - A taxonomic study* - Amsterdam, 1952.

(7) H. H. MARTIN: *Beitrage zur Kenntnis der Morphologie und Physiologie der Nektarhefe Candida Reukaufii (Grüss) Diddens et Lodder.* Arch. f. Mikr., 20, *141-162*, 1954.

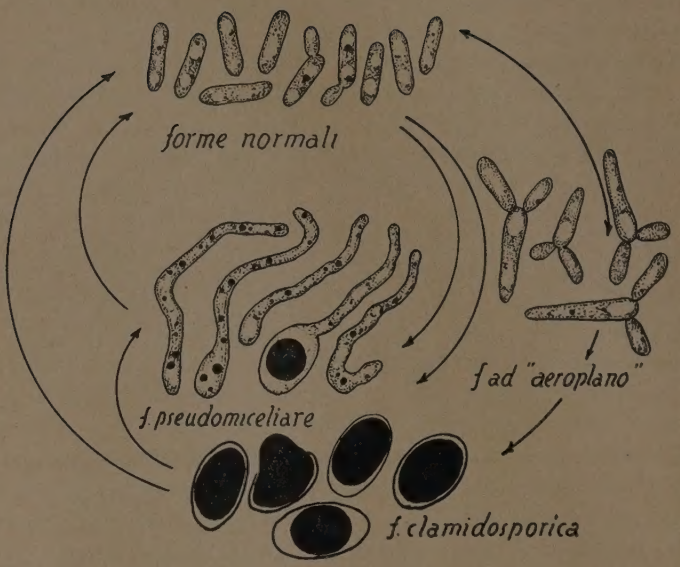


Fig. 2 - Possibile ciclo di sviluppo di *Candida Reukaufii*

E' vero peraltro che CIFERRI e REDAELLI pensarono di includerla tra i lieviti asporigeni creando per essa la nuova famiglia delle Nectaromycetaceae (8). Il riferimento di CIFERRI e REDAELLI si basava sulla formazione di conidi, secondo l'interpretazione di NADSON e KRASSILNIKOV, accanto al normale processo di gemmazione.

DIDDENS e LODDER e quindi LODDER e KREGER VAN RIJ pensando che le forme conidiche osservate da NADSON e KRASSILNIKOV altro non fossero che blastospore, ritengono di dar valore alla manifestata capacità di formare pseudomicelio e pertanto includono la specie entro il gen. *Candida.*

Noi non desideriamo, al momento, contestare il riferimento di questo singolare lievito al gen. *Candida;* vogliamo però aggiungere che esso ci lascia un poco perplessi.

---

(8) R. CIFERRI e P. REDAELLI: *Contribuzioni alla sistematica delle Torulopsidacee* - XV-XXXIII - Arch. f. Mirkr., 6, 8-72, 1935; e, in precedenza, R. CIFERRI e P. REDAELLI, *Annales Mycol., 27, 243-295,* 1929.

In realtà sembra a noi che si sia di fronte ad una specie dalla morfologia dinamica e complessa più di quanto non lo siano le varie specie di *Candida*. D'altra parte, in *Candida*, la formazione di pseudomicelio è carattere *tipico* e *costante* mentre, nella specie che si discute, la sua formazione è interpretata come il risultato di un processo dissociativo, spesso condizionato a fattori esterni, tanto che lo stesso pseudomicelio può anche non formarsi.

Poi, a costituire elemento di maggiore complicazione, sta la formazione — e a volte prevalente o quasi — delle veramente grandi e ben tipiche clamidospore. Occorre riconoscere che un quadro di questo genere non ci richiama, con immediatezza, il gen. *Candida* appena si faccia eccezione di *C. pulcherrima*, sotto certi aspetti assai prossima a *C. Reukaufii* e anche questa di difficile interpretazione sistematica come diremo in altro lavoro.

Certo, nell'attuale sistema dei lieviti il riferimento a *Candida* è, per la specie che si discute, l'unico possibile; ma noi ci domandiamo fino a che punto esso deve considerarsi esatto e fino a che punto non abbia ragione chi, per detta specie, pensa ragionevole — come noi siamo inclini a pensare — una diversa autonoma sistemazione.

RIASSUNTO

Gli AA. nel descrivere come *Candida Reukaufii* (Grüss) Diddens et Lodder un lievito isolato da fiori di Eucalitto, prendono occasione per discutere la posizione sistematica di questa interessante specie.

SUMMARY

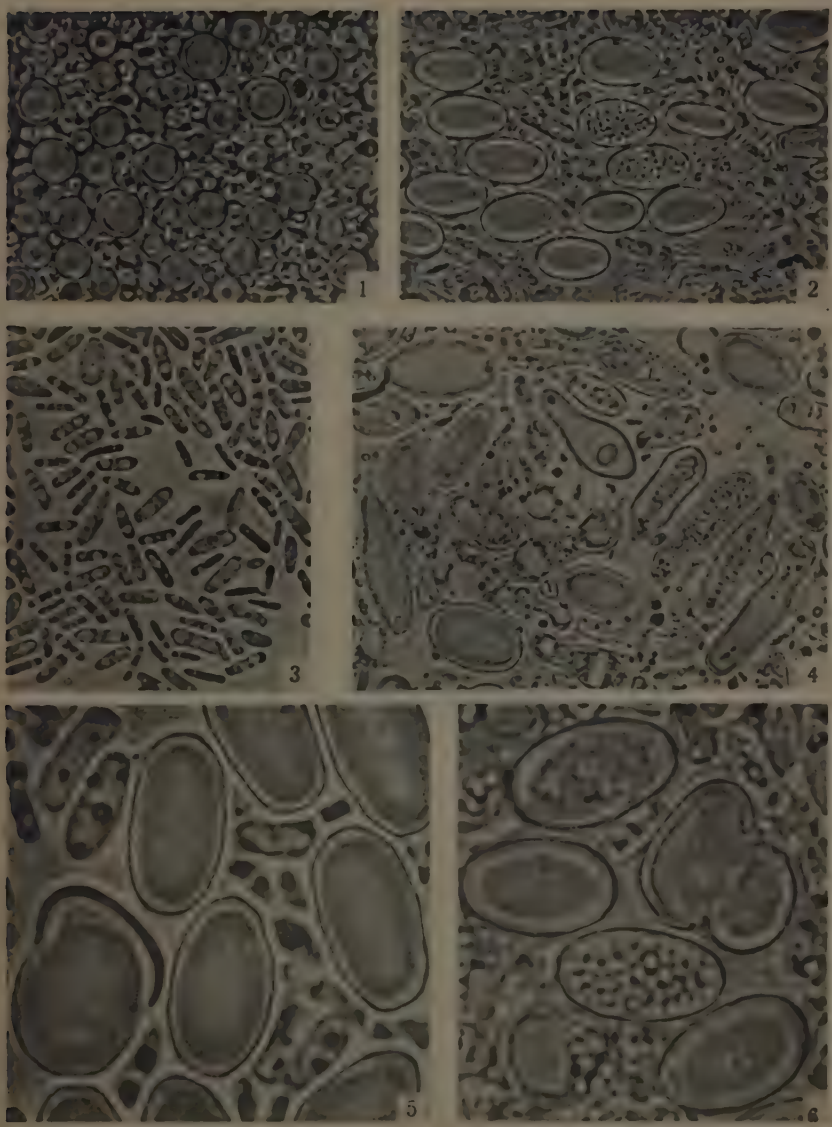
The AA. in describing as *Candida Reukaufii* (Grüss) Diddens et Lodder, a yeast isolated from flowers of *Eucaliptus*, take the opportunity to discuss the systematic position of this interesting species.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

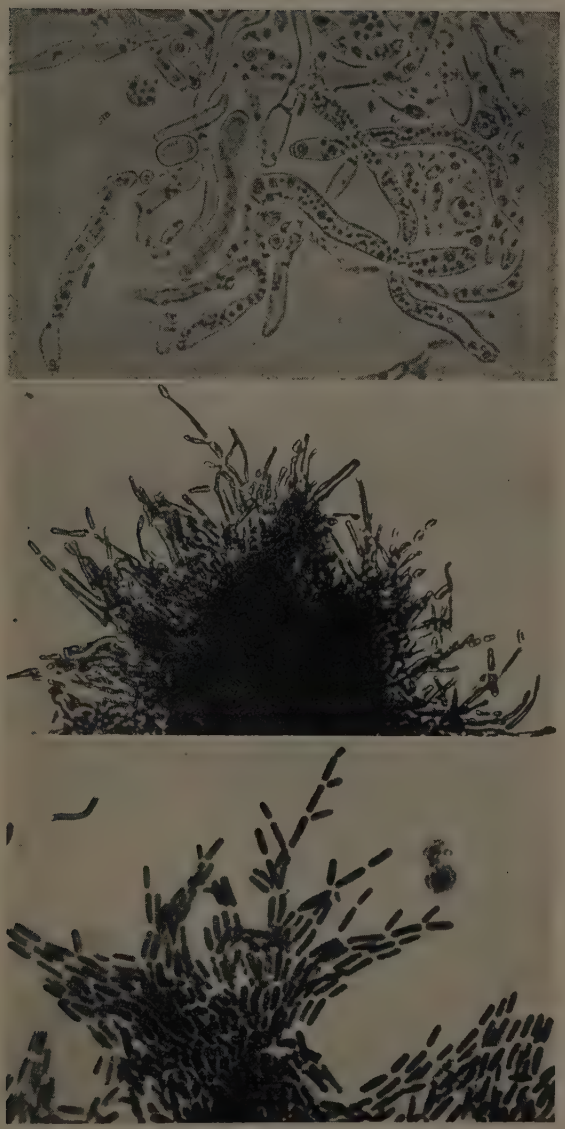
I - *C. pulcherrima* (1) e *C. Reukaufii* (2) allo stesso ingrandimento. *C. Reukaufii*: 3, cellule normali; 5 e 6 clamidospore; 4, clamidospore in agar-Gorodkova.

II - Cellule ifali e formazione di pseudomicelio in *C. Reukaufii*.

Estratto da **Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia** Serie 5, Vol. **XIX** pag. 77-84 (1961)



TAV. I



TAV. II